

- 维化大鼠血液流变学的影响[J]. 广东药学院学报, 2012, 28(3):311-315.
- [17] 徐晶, 马二卫, 白璐, 等. 化淤通络中药对糖尿病肾病大鼠肾皮质血管紧张素转化酶 2-血管紧张素(1-7)-Mas 轴的影响[J]. 中国中西医结合杂志, 2014, 34(6):714-721.
- [18] 潘永梅, 陈志强, 马赞, 等. 活血化淤通络方对糖尿病肾病大鼠肾脏骨形态蛋白 7 表达的影响[J]. 中医杂志, 2013, 54(19):1672-1676.
- [19] 赵宗江, 王颖超, 杜磊, 等. 健脾益肾化淤通络方对糖尿病肾病大鼠氧化应激的影响[J]. 北京中医药大学学报, 2013, 36(3):161-165.
- [20] 晋中恒, 王建华, 蒋松, 等. 益气养阴化淤通络法治疗早期糖尿病肾病疗效观察[J]. 四川中医, 2014, 32(9):96-98.
- [21] 江鹏, 杨思鹏, 齐保险, 等. 益肾化淤通络法治疗 IV 期糖尿病肾病临床观察[J]. 辽宁中医药大学学报, 2014, 16(11):135-137.
- (收稿日期:2015-06-20 修回日期:2015-09-25)

• 综 述 •

富血小板纤维蛋白及其在牙周组织再生的应用进展

龙 刚^{1,2} 综述, 蒋俊强^{1△} 审校 (1. 四川医科大学口腔医学院, 四川 泸州 646000; 2. 重庆牙科医院, 重庆 400010)

【关键词】 富血小板纤维蛋白; 生长因子; 牙周组织再生

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.06.055 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)06-0852-03

富血小板纤维蛋白是将人自身静脉血经过离心所得到的凝胶样膜状物,它是一个结构疏松,空隙大,积聚着大量的血小板、细胞生长因子及免疫细胞的网状结构^[1]。富血小板纤维蛋白中所含血小板生长因子、纤维胶原蛋白是牙周组织再生修复中必不可少的成分,是目前牙周病学的研究热点之一。

1 富血小板纤维蛋白发展过程

1984 年,Assoian 等^[2]首次发现从人血浆中提取的富血小板血浆,其中含有多细胞生长因子,并用于临床促进组织再生治疗。2000 年,法国科学家 Dohan 等^[3]从人自身静脉血离心提取出的新一代血液制品——富血小板纤维蛋白。相对于富血小板血浆的优势在于:自体静脉血易于采集制备,不需抗凝剂,使用安全,生物化学性质不变,从而避免了可能导致机体免疫排斥反应的发生及感染性疾病的传播。从静脉血通过梯度差速离心出新的血液制品——浓缩生长因子,所含的细胞生长因子和纤维胶原蛋白更能促进软硬组织再生修复^[4]。

2 富血小板纤维蛋白制备过程

首先在富血小板血浆的基础上采集人自身静脉血液,无其他添加成分直接装入 10 mL 的试管,立即以 3 000 r/min 离心 10 min,离心所得试管中部半透明弹性膜状物——富血小板纤维蛋白,贫血小板血浆层与红细胞层之间的富含血小板的纤维蛋白凝胶中间层即为富血小板纤维蛋白,它是一种半透明弹性膜状物^[5]。2013 年 Ghanaati^[6]在富血小板纤维蛋白技术的基础上以 1 500 r/min,14 min 梯度离心改进研究出改良的富含血小板纤维蛋白凝胶。

3 富血小板纤维蛋白的结构

富血小板纤维蛋白在制备过程中,经过缓慢自然的聚合,形成立体网状结构的纤维蛋白凝胶,结构疏松,孔隙大,其中容纳着大量的细胞因子等,作为一种基质为细胞的附着、迁移及分化提供了有利的场所^[7]。孙洁等^[8]通过扫描电镜对富血小板纤维蛋白超微结构的观察发现:富血小板纤维蛋白由纤维蛋白聚集形成疏松多孔的立体网络结构,形态规则清晰,其表面的纤维蛋白数量多,纤维蛋白来源于纤维蛋白原的胞质分子。

4 富血小板纤维蛋白的主要成分

富血小板纤维蛋白是新一代的血小板浓缩物,主要由血小板生长因子、白细胞、纤维蛋白组成。

4.1 血小板生长因子

4.1.1 转化生长因子 主要增强纤维母细胞趋化性,促进胶原蛋白、粘连蛋白和骨连蛋白的合成,抑制胶原蛋白的降解,促进成骨细胞趋化和刺激细胞外间质形成^[9]。

4.1.2 血小板衍生生长因子 伤口愈合过程中,主要促进来源于间充质的成纤维细胞、胶质细胞、平滑肌细胞及骨细胞有丝分裂增殖和迁移作用,促进伤口愈合^[10]。

4.1.3 胰岛素样生长因子 主要调节控制细胞增殖和细胞凋亡的整个过程,促进细胞的增殖和分化,抑制细胞在成熟之前的过早凋亡,从而调节细胞的生长、发育和代谢。

4.1.4 血管内皮生长因子 新生血管形成过程中最主要的生长因子,主要通过刺激血管内皮生长因子的表达,直接调节血管内皮细胞的增殖、迁移,分化等,促进新生血管的生成^[11]。

4.1.5 表皮生长因子 主要对体内表皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞的细胞分裂和增殖具有明显的促进作用,同时促进基质的合成和沉积,促进纤维组织形成以及伤口处血管化、上皮化。

4.1.6 成纤维细胞生长因子 主要诱导骨的再生,对骨再生和发育及骨折的愈合起着重要的作用。

4.2 白细胞及其细胞因子 白细胞是机体抵御病原微生物、病毒和细菌入侵的首要屏障,具有防止病原微生物入侵,同时吞噬异物、杀死和溶解病菌,产生抗体、增强机体对疾病的免疫等重要作用。Dohan 等^[3]发现人体静脉血在离心制备富血小板纤维蛋白的过程中,富血小板纤维蛋白凝胶块中所含白细胞被激活,释放炎性因子及抗炎生长因子,如白细胞介素(IL)-1、IL-4、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等。

4.2.1 IL-1 由单核-巨噬细胞的活化产生,并与抗原协同作用,主要促进抗体的形成;吸引中性粒细胞,释放炎性介质;产生免疫调节作用并改善局部炎性反应^[12]。

4.2.2 IL-4 主要诱导分化 T 细胞为 TH2 细胞以及促进 B

细胞,肥大细胞的增殖和分化,增强巨噬细胞功能,缓和炎性等作用^[13]。

4.2.3 IL-6 IL-6 是一种多功能细胞因子,主要活化 B 细胞增殖,产生分泌抗体,刺激 T 细胞增殖及细胞毒性 T 淋巴细胞活化,参与炎性反应^[14]。

4.2.4 TNF- α TNF- α 主要杀死某些肿瘤细胞或抑制其增殖;并促进 T 细胞的增殖和分化。

4.3 纤维蛋白 纤维蛋白是一类主要的不溶于水的蛋白质,为细胞或机体起着保护或结构上的作用。

4.3.1 骨形成蛋白 骨基质中一类可溶性蛋白成分,主要诱导骨的形成^[15]。

4.3.2 釉基质蛋白 以釉原蛋白为主要成分,主要促进间充质细胞分化,刺激细胞生长、增殖和迁移,促进蛋白合成,促进新生血管和骨样结节的形成^[16]。

5 生物学特性

富血小板纤维蛋白中滞留着部分白细胞和免疫细胞,这些白细胞和免疫细胞可以释放多种炎性因子,具有抗感染能力,调节炎性反应,从而减轻软组织周围的炎性反应^[17-19]。富血小板纤维蛋白中所含纤维蛋白则作为血管重建的基础组织,富血小板纤维蛋白中的生长因子在纤维蛋白这一载体的作用下能够缓慢释放,促进牙龈成纤维细胞的增殖,同时又具有止血、抗感染、促进上皮愈合与引导血管再生的作用^[20]。富血小板纤维蛋白中富含的多种细胞生长因子缓慢持续释放,促进 I 型胶原及纤连蛋白的合成,刺激基质干细胞的趋化及增殖,刺激成纤维细胞及血管内皮的分化增殖,加快牙龈组织的愈合,对牙周组织再生修复起到积极作用^[21]。同时,富血小板纤维蛋白疏松的网状立体结构为成骨细胞的迁移、增殖及分化提供场所,也为骨组织的再生提供支架保护作用。富血小板纤维蛋白中富含的多种生长因子诱导成骨细胞迁移、增殖、分化,促进骨愈合。He 等^[22]研究已经证实富血小板纤维蛋白具有良好的成骨能力,认为富血小板纤维蛋白中的细胞生长因子与纤维蛋白发生化学键结合后,缓慢地释放细胞生长因子,延长了细胞生长因子的作用时间,体现了相对长效的特点,使其生长因子持续稳定发挥促进成骨作用。He 等^[22]还发现富血小板纤维蛋白有着相较于富血小板血浆更明显的促进成骨细胞增殖与分化的作用。

6 富血小板纤维蛋白在牙周组织再生中的临床应用

富血小板纤维蛋白作为自体来源的生物材料,已越来越广泛地用于口腔临床的各个领域,如用于牙周手术过程中促进伤口的愈合,增加软组织的美观程度,促进骨再生与骨整合,均已取得了满意的临床效果。

6.1 富血小板纤维蛋白在修复口腔牙龈萎缩中的应用 临床上富血小板纤维蛋白易于制取,而且能够减少出血和加速伤口的愈合,有效地促进软组织重建和骨组织再生,特别是在牙周组织再生治疗有其优势^[23]。富血小板纤维蛋白治疗牙龈退缩时发现,富血小板纤维蛋白在促进软组织再生方面并没有明显优势,但却可以减少术后不适,加快牙龈组织愈合和新生血管再生^[24-25]。

6.2 富血小板纤维蛋白在修复口腔牙槽骨缺损中的应用 富血小板纤维蛋白凭借自身的纤维蛋白框架阻止生长因子的蛋白水解,减缓其释放,延长其作用时间,更加有效的促进骨再生^[26]。水平吸收常形成骨上袋是最普遍的牙周缺损形式,Joseph 等^[27]应用富血小板纤维蛋白治疗慢性牙周炎水平吸收明

显提高临床参数的牙周袋探测深度和临床附着水平。Thorat 等^[28]对慢性牙周炎导致的牙槽骨缺损行翻瓣刮治后充填富血小板纤维蛋白对比观察,发现富血小板纤维蛋白组的探诊深度、附着水平及影像学参数明显优于阴性对照组,在牙周翻瓣术中使用富血小板纤维蛋白凝胶相比于单纯牙周翻瓣清创术,术后 9 个月后水平牙槽骨吸收缺损明显减少探诊深度和提高上皮附着水平,表明使用富血小板纤维蛋白可以明显提高临床参数的探测深度和临床附着水平。

有研究报道,临床对比评价自体富含血小板纤维蛋白、富含血小板血浆治疗慢性牙周炎三壁骨袋骨缺损,得出富血小板纤维蛋白可以缩短手术时间,降低手术难度,明显减少牙周袋探测深度和提高牙周附着水平,获得较好的上皮附着水平和更多的再生新骨,术后影像学检测牙槽骨密度明显增加,由此可见富血小板纤维蛋白可提高治疗牙周骨内袋缺损的临床效果,证实了富血小板纤维蛋白具有促进牙周组织再生的作用,为富血小板血浆在牙周再生治疗中的应用提供了依据^[29-32]。可见富血小板纤维蛋白是一种有效治疗牙周病的有效方法之一。

6.3 富血小板纤维蛋白在修复根分叉病变骨缺损中的应用 富含血小板纤维蛋白,作为组织再生修复材料,能加速软、硬组织的愈合。有学者应用自体富含血小板纤维蛋白治疗下颌 2 度根分叉病变骨缺损,术后 9 个月临床检查菌斑指数、龈沟出血指数、探测深度、垂直和水平临床附着水平,牙龈边缘的水平明显改善,影像学检测缺陷处骨质密度增加。

7 展 望

牙周炎治疗的最终目标是实现完整的牙周组织再生。目前,富血小板纤维蛋白在基础研究及相关的口腔临床应用肯定了其在口腔牙周软硬组织缺损再生方面彰显的显著优势,但是富血小板纤维蛋白中所含的细胞生长因子和机制仍知之甚少,这还需要进一步的研究探索,需要进一步动物实验研究来系统阐述富血小板纤维蛋白修复口腔软硬组织缺损的相关理论依据。当前富血小板纤维蛋白技术在口腔领域仍较多地被用于口腔种植,在治疗牙周炎导致的骨缺损方面,其远期临床疗效尚有待于进一步观察。考虑到富血小板纤维蛋白有着更加长期而稳定的疗效且制作简便,因此值得继续深入研究,并推广其在牙周组织再生中的应用。

参考文献

- [1] Dohan DM, Corso MD, Diss A, et al. Three-dimensional architecture and cell composition of a Choukroun's platelet-rich fibrin clot and membrane[J]. Periodontol, 2010, 81(4):546-555.
- [2] Assoian RK, Grotendorst GR, Miller DM, et al. Cellular transformation by coordinated action of three peptide growth factors from human platelets[J]. Nature, 1984, 309(5971):804-806.
- [3] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part I: technological concepts and evolution[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006, 101(3):37-44.
- [4] Sharma A, Pradeep AR. Autologous platelet-rich fibrin in the treatment of mandibular degree II furcation defects: a randomized clinical trial[J]. Periodontol, 2011, 82(10):1396-1403.

- [5] Toffler M, Holtzclaw D, Toscano N, et al. Introducing choukroun's platelet rich fibrin(PRF) to the reconstructive surgery milieu[J]. IACD, 2009, 1(6): 21-32.
- [6] Ghanaati S. Advanced platelet-rich fibrin; a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells[J]. Oral Implantol, 2014, 40(6): 679-689.
- [7] Diss A, Dohan DM, Mouhyi J, et al. Osteotome sinus floor elevation using choukroun's platelet-rich fibrin as grafting material; a 1-year prospective pilot study with micro-threaded implants[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2008, 105(5): 572-579.
- [8] 孙洁, 张剑明, 李彦秋. 富血小板纤维蛋白超微结构的观察与探讨[J]. 口腔医学研究, 2010, 26(1): 98-101.
- [9] Carlson NE, Roach RB. Platelet-rich plasma; clinical applications in dentistry [J]. Am Dent Assoc, 2002, 133(10): 1383-1386.
- [10] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part II: platelet-related biologic features[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006, 101(2): 45-50.
- [11] Dohan DM, Choukroun J, Diss A, et al. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part III: leucocyte activation: a new feature for platelet concentrates [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2006, 101(3): 51-55.
- [12] 孙洁, 张剑明, 李彦秋. 富血小板纤维蛋白超微结构的观察与探讨[J]. 口腔医学研究, 2010, 26(1): 98-101.
- [13] 周永敏. 富血小板纤维蛋白在修复牙周组织缺损中的应用研究[J]. 医学美容美容, 2015, 24(4): 198-199.
- [14] 朱一慰. 谈细胞因子[J]. 生物学教学, 2013, 38(9): 50-51.
- [15] 司晓辉, 杨连君. 骨形成蛋白与骨骼生长发育的研究进展[J]. 国外医学口腔医学分册, 1997, 24(4): 229-231.
- [16] Rodrigues TL, Marchesan JT, Coletta RD, et al. Effects of enamel matrix derivative and transforming growth factor-beta1 on human periodontal ligament fibroblasts[J]. Clin Periodontol, 2007, 34(6): 514-522.
- [17] 钱文慧, 徐艳, 孙颖. 富血小板血浆与富血小板纤维蛋白在牙周组织再生中的应用[J]. 口腔生物医学, 2011, 2(2): 96-99.
- [18] Dohan-Ehrenfest DM, Diss A, Odin G, et al. In vitro effects of Choukroun's PRF (platelet-rich fibrin) on human gingival fibroblasts, dermal prekeratinocytes, preadipocytes, and maxillofacial osteoblasts in primary cultures[J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009, 108(3): 341-352.
- [19] Dohan Ehrenfest DM, de Peppo GM, Doglioli P, et al. Slow release of growth factors and thrombospondin-1 in Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): a gold standard to achieve for all surgical platelet concentrates technologies[J]. Growth Factors, 2009, 27(1): 63-69.
- [20] 王悦, 周延民. 富血小板血浆相关因子及临床应用的研究进展[J]. 口腔医学研究, 2011, 28(1): 74-76.
- [21] Pradeep R, Agarwal E, Bajaj P, et al. Comparative evaluation of autologous platelet-rich fibrin and platelet-rich plasma in the treatment of 3-wall intrabony defects in chronic periodontitis; a randomized controlled clinical trial [J]. Periodontol, 2012, 83(12): 1499-1507.
- [22] He L, Lin Y, Hu X, et al. A comparative study of platelet-rich fibrin (PRF) and platelet-rich plasma (PRP) on the effect of proliferation and differentiation of rat osteoblasts in vitro [J]. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod, 2009, 108(5): 707-713.
- [23] Anilkumar K, Geetha A, Umasudhakar, et al. Platelet-rich-fibrin; a novel root coverage approach [J]. J Indian Soc Periodontol, 2009, 13(1): 50-54.
- [24] Kang YH, Jeon SH, Park JY, et al. Platelet-rich fibrin is a bioscaffold and reservoir of growth factors for tissue regeneration[J]. Tissue Eng Part A, 2011, 17(4): 349-359.
- [25] Markou N, Pepelassi E, Vavouraki H, et al. Treatment of periodontal endosseous defects with platelet-rich plasma alone or in combination with demineralized freeze-dried bone allograft; a comparative clinical trial [J]. Periodontol, 2009, 80(12): 1911-1919.
- [26] Lundquist R, Dziegiel MH, Agren MS. Bioactivity and stability of endogenous fibrogenic factors in platelet-rich fibrin [J]. Wound Repair Regen, 2008, 16(3): 356-363.
- [27] Joseph VR, Sam G, Amol NV, et al. Clinical evaluation of autologous platelet rich fibrin in horizontal alveolar bony defects [J]. J Clin Diagn Res, 2014, 8(11): 43-47.
- [28] Thorat M, Pradeep AR, Pallavi B. Clinical effect of autologous platelet-rich fibrin in the treatment of intra-bony defects; a controlled clinical trial [J]. Clin Periodontol, 2011, 39(10): 925-932.
- [29] 许王伟, 柳忠豪. Choukroun 富血小板纤维蛋白在口腔种植骨缺损中的研究与进展 [J]. 中国组织工程研究, 2012, 16(4): 741-744.
- [30] 杨全全, 何家才. 富血小板纤维蛋白在口腔种植中的应用的研究进展 [J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(10): 1066-1068.
- [31] 杨颖, 仲维剑, 马国武. 富血小板纤维蛋白用于骨组织再生研究进展 [J]. 中国实用口腔科杂志, 2012, 5(12): 763-766.
- [32] 孙洁. 富血小板纤维蛋白生物学特性的研究 [D]. 天津: 天津医科大学, 2010.

(收稿日期: 2015-10-11 修回日期: 2015-12-03)